ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE : 1984

THÈSE : 44

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA GAMMA-GLUTAMYL TRANSFERASE DU COLOSTRUM DE LA VACHE

THÈSE

pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'État)
Présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

José DELAVAL

né le 29 décembre 1955 à SALOMÉ (Nord)

MEMBRES DU JURY

Président :	Monsieur DOUSTE-BLAZY Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse
Assesseurs :	Monsieur RICO Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
	Madame BURGAT-SACAZE Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
Membre invité :	Monsieur SOULA Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547620_0064

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ÉE : 1984

THÈSE : 44

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA GAMMA-GLUTAMYL TRANSFERASE DU COLOSTRUM DE LA VACHE

THÈSE

pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'État)
Présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

José DELAVAL

né le 29 décembre 1955 à SALOMÉ (Nord)

MEMBRES DU JURY

Président : Monsieur DOUSTE-BLAZY
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : Monsieur RICO
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Madame BURGAT-SACAZE
Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

Membre invité : Monsieur SOULA
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur ..... M. LAUTIE
Directeur honoraire ..... M. FLORIO
Professeurs honoraires ..... MM. BRIZARD
SAURAT
GODFRAIN

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire ..... Mme BURGAT-SACAZE
Maître-Assistant ..... M. PETIT

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire ..... MM. RICO
Professeur sans chaire ..... BRAUN
Maître-Assistant agrégé ..... BENARD

Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale
Informatique biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire ..... MM. PAVAUX
Maître-Assistant Agrégé ..... LIGNEREUX
Maître-Assistant Agrégé ..... SAUTET

Organogénèse – Tératologie
Anatomie générale – Anatomie appliquée

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE, PHARMACODYNAMIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire ..... MM. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire ..... FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé ..... TOUTAIN

Physiologie – Pharmacodynamie
Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE – ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire ..... MM. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire ..... CABANIE
Maître-Assistant Agrégé ..... MAGNOL

Histologie – Embryologie
Anatomie Pathologique – Clinique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire ..... MM. LABIE
Maître de conférences ..... EECKHOUTTE
Maître-Assistant Agrégé ..... Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et
Technologie des denrées alimentaires
d'origine animale – Clinique

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire ..... MM. DORCHIES
Maître de Conférences ..... FRANC
Maître-Assistant Agrégé ..... DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée – Ecologie
Parasitologie externe – Dermatologie
Parasitologie interne – Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES ET DE LEGISLATION

Professeur titulaire ..... MM. LESCURE
Maître de Conférences ..... GUELFI
Maître-Assistant agrégé ..... REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale des
Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire ..... MM. TOURNUT
Maître de Conférences ..... BEZILLE
Maître-Assistant ..... JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale
du Bétail et des animaux de basse-cour
Clinique – Consultation itinérante

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire ..... MM. CAZIEUX
Maître de Conférences ..... GENEVOIS
Maître-Assistant Agrégé ..... AUTEFAGE
Maître Assistant ..... FAYOLLE

Propédeutique et Sémiologie chirurgicale
Radiologie – Technique chirurgicale
Anesthésiologie – Pathologie chirurgicale
Traumatologie – Podologie orthopédique – Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire ..... MM. FERNEY
Professeur sans chaire ..... ROYAL
Maître-Assistant ..... BERTHELOT

Pathologie de l'appareil génital et de la mamelle
Sémiologie et propédeutique
Pathologie de la Reproduction
Obstétrique et pathologie du nouveau-né
Clinique – Consultation itinérante

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES – ZOONOSES LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire ..... MM. CHANTAL
Maître-Assistant ..... PICAVET
Maître-Assistant ..... LACHERETZ

Epidémiologie – Maladie Contagieuses
Zoonoses – Législation sanitaire – Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE – MICROBIOLOGIE – IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire ..... MM. LAUTIE
Maître de Conférences ..... EUZEBY
Maître-Assistant ..... MILON

Microbiologie – Immunologie
Pathologie Générale

CHAIRE D'ELEVAGE ET ECONOMIE

Professeur titulaire ..... MM. QUEINNEC
Professeur sans chaire ..... DARRE
Maître-Assistant ..... Mme QUEINNEC

Ethnologie – Génétique animale
Extérieur – Zootechnie et économie générales
Ethologie appliquée, Sciences, Techniques
Economie de l'Elevage et des Productions animales
Insémination artificielle – Organisation de l'Elevage

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire ..... MM. FALIU
Professeur sans chaire ..... GRIESS
Maître-Assistant ..... ENJALBERT

Botanique appliquée et bromatologie
Agronomie – Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET et MAZENC.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 Mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 Juin 1924.

A MARIE

A JEAN

A MES PARENTS

A MAGALI

A TOUS CEUX QUE J'AIME

A NOTRE JURY DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR DOUTSE-BLAZY

MONSIEUR LE PROFESSEUR RICO

MADAME LE PROFESSEUR BURGAT-SACAZE

MONSIEUR LE PROFESSEUR SOULA

PLAN

====

INTRODUCTION.....p: 1

BIBLIOGRAPHIE.....p: 3

MATERIEL ET METHODE.....p: 19

RESULTATS.....p: 25

Concentration d'activité catalytique de la GGT du colostrum.p: 27

Relation entre la GGT et les protéines du colostrum.....p: 37

DISCUSSION.....p: 43

CONCLUSION.....p: 49

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....p: 53

INTRODUCTION

En biochimie clinique de l'homme et des animaux domestiques, la gamma-glutamyl Transférase (GGT- E.C.2.3.2.2)° est principalement utilisée dans le cadre du diagnostic des affections hépatobiliaires. Par ailleurs, elle est largement exploitée comme marqueur de cancérogénèse hépatique expérimentale chez le rat et la souris.

Quelques résultats récents ont fait état de très fortes augmentations de la concentration d'activité catalytique°° de la GGT plasmatique de ruminants nouveaux-nés, en particulier chez le veau. Ces variations ne sont pas liées à des désordres hépatiques mais résultent de l'ingestion et de l'absorption d'un colostrum maternel renfermant de fortes concentrations de cette enzyme. Les caractéristiques de sécrétion de la GGT dans le colostrum étant assez mal connues, il nous a semblé intéressant et utile d'étudier la GGT du colostrum de la vache.

C'est ainsi que le plan de ce travail s'articule en quatre parties. Après une synthèse de la littérature, nous décrirons le protocole expérimental suivi puis les résultats obtenus que nous discuterons dans le dernier chapitre.

Nous utiliserons:

° l'abréviation GGT pour Gamma-glutamyl transférase.

°° l'expression activité de la GGT pour concentration d'activité catalytique de la GGT recommandée par la S.F.B.C..

****
*   *
* BIBLIOGRAPHIE *
*   *
****

I.- ORIGINE.

La GGT du colostrum et du lait provient des cellules de la mamelle et non d'une filtration de la GGT plasmatique par cette glande.

Nombre de faits expérimentaux viennent confirmer l'hypothèse de l'origine mammaire alors que d'autres infirment l'hypothèse de l'origine plasmatique.

I.1.- Faits expérimentaux en faveur d'une origine mammaire.

Les homogénats de mamelle de vache et de ratte en lactation ont une activité enzymatique élevée (1-7), très supérieure à celle d'homogénats de mamelle tarie (1,5-7). Un fait inverse a été relevé chez la lapine par Majumder (8) qui ne détecte par ailleurs aucune activité de la GGT dans la mamelle de ratte tarie ou en lactation. Par histoenzymologie, il a été montré que la GGT est localisée dans les épithéliums sécrétoires des tubules (3,9-11) et qu'elle est indétectable dans le tissu conjonctif de soutien (11). Dans la cellule acineuse, la GGT est associée principalement à la membrane plasmique (2,13) et notamment à la surface externe de cette membrane (2). On la trouve également liée aux organites cellulaires tels que l'appareil de Golgi et les vésicules sécrétoires (12,14).

Enfin au plan biochimique, la GGT du lait est pour une large part associée aux membranes de ce fluide, et les caractères cinétiques des enzymes purifiées à partir du lait, des membranes du lait et de la mamelle sont identiques (15,16).

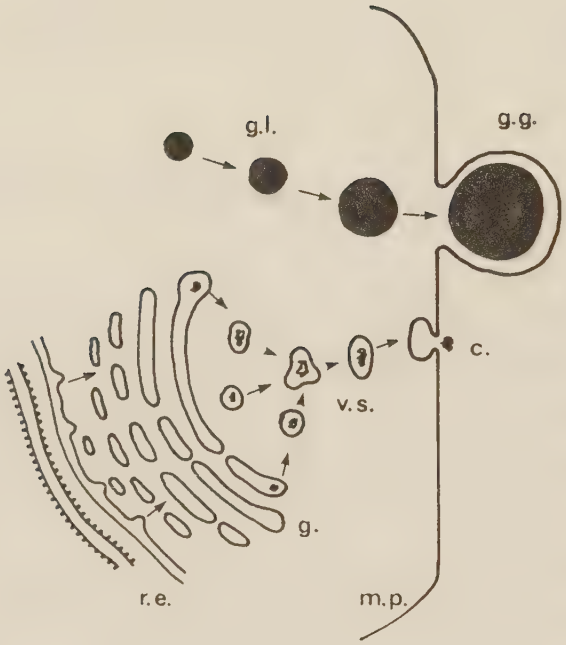

FIGURE N°1.

Flux des membranes dans la cellule sécrétoire d'après Keenan (17).

légendes: r.e.:réticulum endoplasmique, g.: appareil de Golgi. v.s.: vésicules sécrétoires, m.p.: membrane plasmique, g.l.: gouttelette lipidique, g.g.: globule gras, c.: caséine.

Ces faits expérimentaux sont en faveur d'une origine mammaire de la GGT du colostrum et du lait. En effet, le type holomérocrine de la sécrétion lactée et le "flux" des membranes dans la cellule sécrétoire, illustrés par la figure n°1, rendent compte de cette origine mammaire: au pôle apical de la cellule sécrétoire, la membrane plasmique est éliminée en partie lors de la formation des globules gras du lait; mais elle est sans cesse reconstituée par les membranes des vésicules sécrétoires qui s'y intègrent lors de la sécrétion des protéines et du lactose (17,18).

I.2.- Faits expérimentaux excluant l'origine plasmatique.

Chez la vache adulte, l'activité enzymatique de la GGT plasmatique est faible (19). Elle reste inchangée lors de l'établissememt de la lactation (20) alors que d'emblée le colostrum a une activité très élevée (3,8,19,21,22). Par la suite, la concentration catalytique du lait diminue (8,21,23) mais l'augmentation du volume de la sécrétion lactée est telle que l'activité enzymatique totale reste élevée ou même augmente.

Au plan biochimique, la GGT du colostrum et du lait et la GGT plasmatique diffèrent par leurs solubilités (3), leurs mobilités électrophorétiques (24) et leurs paramètres cinétiques (8).

Ces différences excluent l'origine plasmatique de la GGT du colostrum et du lait.

ESPECES	n=	COLOSTRUM	n=	LAIT	AUTEURS
	38	7020 ± 2520	38	1000	21
FEMME	07	490 à 6300	22	134	29
	23	28800 ± 9700	04	3900	28
	10	2000 ± 190	-	-	03
	16	17000 ± 7000	14	4000	23
	10	780 ± 188	10	410 ± 84	03
	10	1240 ± 410	-	-	21
VACHE	-	4000	-	-	12
	06	10233	-	-	22
	-	-	-	108 ± 35	16
	-	-	55	4720	26
	-	-	20	760	30
BUFFLE	-	-	17	3200	26
CHEVRE	-	900	-	-	19
JUMENT	-	350	-	-	19
BREBIS	-	320 ± 130	-	-	21

TABLEAU n°1

Concentration d'activité catalytique de la GGT du colostrum et du lait de différentes espèces.
Les résultats sont exprimés en unité par litre mais les techniques de mesure étant différentes, les résultats ne sont pas nécessairement comparables.

II.- ACTIVITE.

II.1.- Concentration d'activité.

Les résultats relevés dans la littérature pour différentes espèces de mammifères sont rassemblés dans le tableau n°1. Ces résultats obtenus à l'aide de techniques variées et de prélèvements effectués à des moments différents par rapport à la naissance sont difficilement comparables.

Néanmoins, on peut observer que dans tous les cas l'activité du colostrum est supérieure à celle du lait, elle même supérieure à celle du plasma. A titre d'exemple, chez la vache, le rapport entre colostrum et lait varie de 2,3 à 3,3, selon Majumder (8) et celui entre le lait et le plasma est voisin de 150 selon Sobiech (3) et de 250 selon Braun (23).

On note également de grandes différences interspécifiques, le colostrum de femme est le plus riche en GGT avec une concentration environ 6 fois supérieure à celle du colostrum de vache (3,21), lui même environ 4 fois plus riche que celui de brebis (21). Par ailleurs, le colostrum de vache est environ 20 fois plus riche que celui de chèvre et 50 fois plus riche que celui de jument (23).

Par contre, le lait de vache a une activité spécifique supérieure à celui de femme (24), celui de lapine ayant la concentration d'activité la plus élevée de tous (27).

II.2.- Facteurs de variation.

II.2 .1.- Analytiques.

La congélation et le stockage au froid n'altèrent pas l'activité des échantillons (3), bien que la congélation en déstabilisant les membranes puisse modifier la répartition de cette activité (16).

le traitement thermique diminue l'activité enzymatique de la GGT (3,26,27). Un chauffage à 62°C pendant 30 min fait chuter l'activité de 18%; 78% sont perdus en 15 s à 72°.

La dialyse du lait entier augmente l'activité enzymatique, car elle supprime les effets inhibiteurs du lactose et de l'acide citrique. Les caséines et les protéose-peptones sont sans effet (26).

Les précautions d'asepsie lors du prélèvement et du traitement de l'échantillon n'ont aucune influence sur son activité enzymatique (26) dans la mesure où la pullulation microbienne reste très limitée.

II.2.2.- Biologiques.

II.2.2.1.- Variations inter-individuelles.

Seul Majumder (26) a étudié l'influence de la race. Il ne relève aucune différence significative entre l'activité enzymatique des laits de 3 races indiennes. Il note par ailleurs, que les écarts existant entre les individus d'une même race sont supérieurs aux écarts

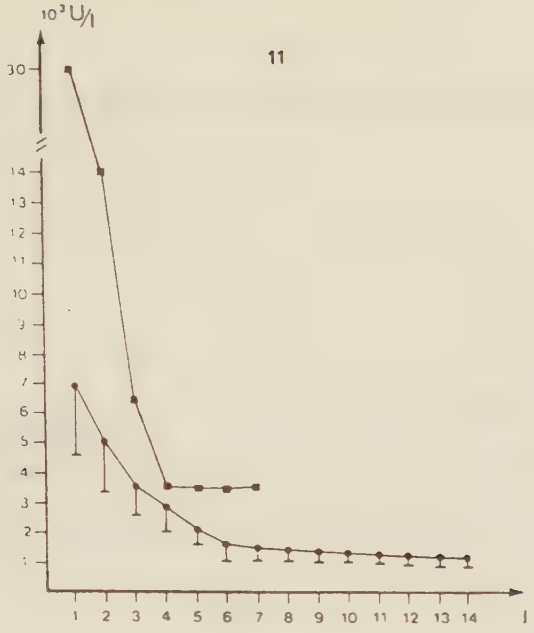

FIGURE N°2.

Variation de la concentration d'activité catalytique de la GGT du colostrum et du lait de femme.

■ : selon Landon (28). (n=4).

● : selon Sobiech (21). (n=34).

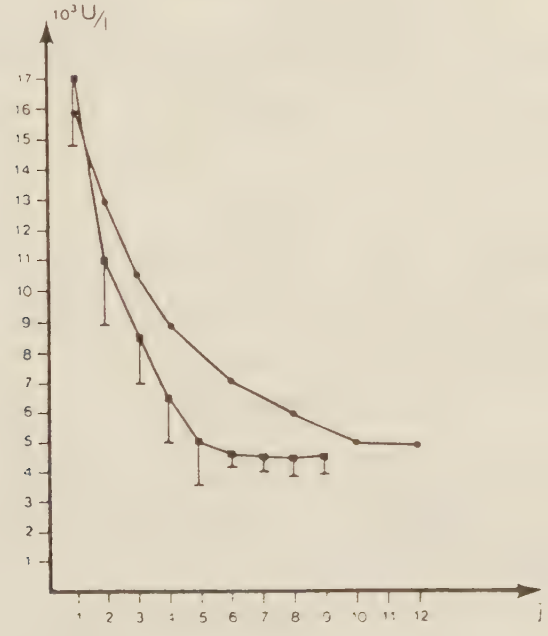

FIGURE N°3.

Variation de la concentration d'activité catalytique de la GGT du colostrum et du lait de la vache.

■ : selon Braun (23). (n=14).

● : selon Majumder (26). (n=10).

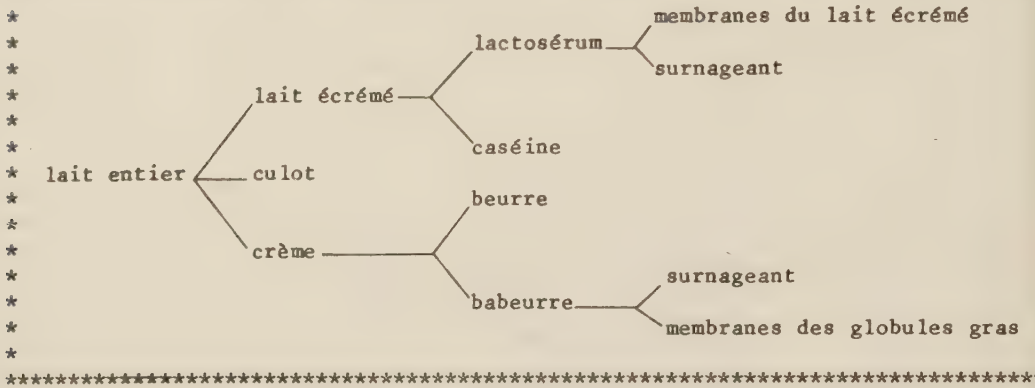

TABLEAU N°2

Fractionnement du lait entier.

	Majumder (30) unité 1		Baumrucker (16) unité 2	
lait entier	-	100 %	x	100 %
crème	15,45	47 %	2,1 x	23 %
culot	0,24	25 %	-	1 %
lait écrémé	0,78	28 %	-	74 %

TABLEAU N°3

Concentration d'activité catalytique de la GGT des fractions du lait entier.
unité 1= µmol d'hydroxamate / 10 mg de protéine.
unité 2= µmol de p.nitroanilide / min.

relevés entre ces races et illustrent ainsi les grandes variations inter-individuelles.

II.2.2.2.- Variations intra-individuelles.

Les figures n°2 et n°3 rapportent l'évolution de l'activité enzymatique du colostrum de femme et de vache. On note d'emblée dans le colostrum une très forte activité enzymatique qui décroît rapidement et atteint en quelques jours les valeurs stationnaires du lait (21,23,26,28,29).

Les influences de l'âge et du numéro de lactation n'ont pas été étudiées à notre connaissance.

III.- REPARTITION.

L'activité enzymatique de la GGT est trouvée dans toutes les fractions du lait (tableau n°2.).

L'importance relative de chaque fraction varie selon les techniques de fractionnement et de dosage employées. Les résultats sont donc difficilement comparables; néanmoins il ressort de ces études que la GGT du colostrum et du lait est une enzyme principalement membranaire.

III.1.- Fractions du lait entier.

le tableau n°3 donne les activités enzymatiques des phases obte-

	Majumder (30) unité 1			Baumrucker (16) unité 2		
crème	3,4	:	-	0,23	:	-
beurre	-	:	-	-	:	-
babeurre	3,4	:	100 %	-	:	100 %
résidu gras	6,7	:	4,5 %	-	:	-
surnageant	3,25	:	32 %	-	:	78 %
membranes	2,96	:	63 %	2,33	:	28 %

TABLEAU N°4

Concentration d'activité catalytique de la GGT des fractions de la crème.
unité 1= µmol d'hydroxamate / 10 mg de protéine.
unité 2= µmol de p.nitroanilide / min.

	Baumrucker (16)		Sobiech(3)
lait écrémé	100 %	-	-
caséine	24 %	-	-
lactosérum	-	100 %	100 %
surnageant	17 %	24 %	6 %
membranes	56,5	76 %	92 %

TABLEAU N°5

Proportion de la concentration d'activité catalytique de la GGT dans les fractions du lait écrémé.

nues par centrifugation du lait entier. Selon Majumder (30), la crème a une concentration d'activité 20 à 25 fois supérieure à celle du lait entier. Son activité totale représente environ 50% de celle du lait entier alors que celle du lait écrémé et du culot de centrifugation sont respectivement de 28% et 25%.

III.2.- Fractions de la crème.

Les résultats obtenus pour les membranes de la crème sont contradictoires (tableau n°4). Mais Baumrucker (16) explique la faible activité des membranes dans son expérimentation par les effets déstabilisants de la congélation et du barratage qui libèrent la GGT de la membrane du globule gras dans le babeurre.

III.3.- Fractions du lait écrémé.

La précipitation des caséines provoque une perte de 25% de l'activité totale initiale (16) (tableau n°5). Dans le lactosérum obtenu plus de 75% de la GGT sont liés aux membranes (3,16).

IV.- ASPECTS BIOCHIMIQUES.

IV.1.- Structure.

La GGT purifiée du lait et du colostrum a les mêmes caractères structuraux que celle d'autres organes tels que le foie et le rein:

c'est une glycoprotéine formée de 2 sous-unités.

Ces 2 sous-unités ont des masses moléculaires respectives de 57.000 et de 25.500 daltons et donnent une forme légère de masse moléculaire voisine de 83.000 daltons comme pour l'enzyme des autres tissus (15). Par ailleurs une forme lourde a été isolée (3,15,24), elle résulterait de l'union de 2 formes légères ou de l'association de l'enzyme aux débris membranaires.

La copule glucidique de cette glycoprotéine est riche en mannose et acide sialique (3,15).

Avant toute purification, la GGT existe sous la forme d'un complexe glyco-lipo-protéique associé aux débris membranaires résultant du type de sécrétion (30).

IV.2.- Propriétés.

Chez les bovins, la GGT du colostrum et du lait s'apparente sur de nombreux points à celle du rein. Elles ont des affinités voisines vis à vis de nombreux substrats, cofacteurs et inhibiteurs (3,26,27). Elles diffèrent néanmoins sur certains points tels que le comportement électrophorétique (24), la stabilité thermique (26) et leurs affinités pour quelques substrats spécifiques (3,27,29).

De même, la GGT des membranes du lait écrémé et celle de la crème sont très voisines. Elles ont des comportements électrophorétiques semblables en gel de polyacrylamide (15), leurs activités spécifiques subissent les mêmes fluctuations en fonction du pH et de la force ionique du milieu (16) et leurs activités cinétiques en fonction de différents substrats sont identiques (3,15,16). Cependant la concentration d'activité enzymatique des membranes du lait écrémé (14) et son activité spécifique (16) sont supérieures à celles des membranes de la crème.

Par ailleurs, Sobiech (3) a étudié l'influence de diverses molécu-

les sur l'activité de la GGT des membranes du lactosérum: il observe notamment une activation par certains acides-aminés et peptides (en particulier gly-gly) et une inhibition partielle par certains métaux et totale par l'iodoacétamide.

IV.3.- Relation de la GGT avec les immunoglobulines-A sécrétoires.

Pendant longtemps on a estimé que la GGT du colostrum et du lait et les immunoglobulines-A sécrétoires étaient la même entité car les méthodes de purification ne les séparaient pas. Cette hypothèse est actuellement abandonnée et on admet que la GGT et les immunoglobulines-A sécrétoires sont deux glycoprotéines distinctes.

Cependant il est intéressant de reprendre brièvement les faits expérimentaux qui soutiennent l'ancienne hypothèse car ils apportent quelques renseignements d'ordre structural.

En 1974, Binkley (31) copurifia par chromatographie la GGT et les immunoglobulines-A sécrétoires, il trouva l'activité enzymatique de la GGT dans les fractions 70.000 daltons correspondant à celles du corps sécrétoire. Il montra entre autre que la GGT et le corps sécrétoire avaient le même comportement électrophorétique en gel de polyacrylamide.

Depuis, de nombreux faits expérimentaux ont infirmé cette hypothèse. Ainsi, le corps sécrétoire purifié, associé ou non aux immunoglobulines-A, n'a aucune activité enzymatique (32). Par ailleurs, aucune modification de l'activité enzymatique n'est observée par les méthodes immunologiques faisant agir un sérum anti-corps sécrétoire sur des fractions actives du colostrum, alors que le sérum anti-colostrum annule l'activité enzymatique de la GGT (32). La GGT et le corps sécrétoire ont donc des profils antigèniques ne permettant aucune réaction immunologi-

que croisée. Enfin, l'ultracentrifugation à 120.000g d'un lactosérum permet de séparer entièrement la GGT des immunoglobulines-A sécrétoires: l'enzyme est dans le culot de centrifugation sous forme d'agrégats de masse élevée sans trace d'immunoglobuline-A. Les immunoglobulines se concentrent pour 95% dans le surnageant, les 5% restants sont éliminés du culot par simple lavage (12).

Par conséquent, la GGT et les immunoglobulines-A sécrétoires sont des glycoprotéines distinctes sans liaison stable entre elles.

MATERIEL ET METHODES

	Prod.	Race	n=	
		Bazadaise.	33	
	Viande	Maine-Anjou.	20	H.B.
	(80)	Blonde Aquitaine	14	
Effectif		Charolaise	13	
Total		F.F.P.N.	31	
		Brune.	13	H.B.
152	Lait	Normande.	11	
	(72)	Jersiaise.	09	
		Pie-rouge des pl.	04	C.L.B.
		Monbéliarde.	03	

TABLEAU N° 6

Caractéristiques des animaux utilisés pour les mesures de GGT.
(H.B. = Herd-Book; C.L.B. = Contrôle Laitier Beurrier)

Nous décrirons successivement les animaux utilisés, les prélèvements effectués, les techniques employées et le traitement statistique des données.

I.- LES ANIMAUX.

Les analyses ont été faites sur 152 vaches provenant d'exploitations variées dans différentes régions d'élevage. Les animaux appartiennent soit à des races laitières soit à des races à viande comme détaillé dans le tableau n°6.

Les animaux étaient âgés de 2 à 13 ans et étaient donc dans la première à la dixième lactation. Le bon état de santé apparent des sujets a pû être apprécié soit par un examen clinique soit par l'interrogatoire du propriétaire.

II.- PRELEVEMENTS ET LEUR TRAITEMENT.

II.1.- Echéances.

Les analyses ont été réalisées comme suit:

- 5 animaux ont fait l'objet d'un prélèvement séparé pour chaque quartier de la mamelle en début et en fin de traite pendant 3 jours.

Les résultats obtenus ayant montré que la GGT du colostrum ne diffère pas d'un quartier à l'autre, tous les prélèvements ultérieurs ont porté soit sur un seul quartier soit sur le colostrum de mélange.

Ainsi:

- sur 67 vaches laitières a-t-on effectué un prélèvement en début et en fin de traite pendant les 3 jours suivant le vêlage.

- sur 80 vaches à viande a-t-on effectué seulement 1 prélèvement après vêlage.

II.2.- Traitement des prélèvements.

Les premiers prélèvements ont été rapidement réfrigérés et analysés dans un délai n'excédant pas 24 heures. Le reste a alors été congelé à -20°C.

Ayant établi que la congélation n'altère pas notablement l'activité de la GGT du colostrum pendant des délais atteignant 200 jours, toutes les analyses ultérieures ont porté indifféremment sur du colostrum frais ou congelé.

610 prélèvements ont été ultracentrifugés à 130.000 g pendant 30 min pour séparer grossièrement la phase lipidique, le culot et la fraction délipidée du colostrum; seule cette dernière a été conservée et analysée.

III.- ANALYSES.

III.1.- Mesure de la concentration d'activité catalytique de la GGT.

III.1.1.- Principe de la méthode.

L'activité de la GGT de tous les prélèvements a été mesurée

par un test cinétique du commerce (Boehringer Mannheim n°10) adapté de Szasz (33) et Persijn (34). La mesure est faite à 30°C par enregistrement de l'augmentation de la densité optique à 405 nm par un spectrophotomètre UV-24 Beckmann couplé à un enregistreur graphique.

III.1.2.- Dilution.

Compte tenu de la très forte activité de la GGT du colostrum les prélèvements ont été systématiquement dilués au 1/101° ou au 1/1001° avec une solution isotonique de NaCl.

III.1.3.- Contrôle de qualité.

Des contrôles réguliers de la précision et de l'exactitude de la méthode ont été réalisés avec des pools de sérum et de colostrum congelés et un sérum étalon du commerce.

III.2.- Dosage des protéines totales et électrophorèse.

Ces analyses ont porté sur les fractions délipidées du colostrum. Les protéines totales ont été dosées par la réaction du Biuret sur un automate de transfert Chemetrics selon la méthode recommandée par le fabricant. La séparation des fractions protéiques a été réalisée par électrophorèse sur acétate de cellulose à pH=8,6, i=0,05 (tampon véronal) pendant 20 min à 250 V. Après coloration au rouge Ponceau, la quantification a été effectuée à l'aide d'un densitomètre Beckmann R-112.

III.3.- Chromatographie.

La GGT du colostrum a été fractionnée par chromatographie d'exclusion-dilution (Sépharose 6B) dans une colonne de 1 m x 0.02 m. L'élution par un tampon Tris pH=7,7, i=0,1 a été faite en 12 h à 4°C, les fractions collectées sont de 3 ml le débit étant de 30 ml/h.

L'activité de la GGT a alors été mesurée dans chaque fraction par une réaction voisine de la précédente sur un automate CoBas Bio (Roche) selon la méthode recommandée par le fabricant.

IV.- TRAITEMENT STATISTIQUE DES RESULTATS.

Les calculs de moyennes, d'écarts types, de coefficients de corrélation et du test de Student ont été effectués à l'aide d'un ordinateur DPS 7 et du programme TRAFIC.

RESULTATS

I.- CONCENTRATION D'ACTIVITE CATALYTIQUE DE LA GGT DU COLOSTRUM.

I.1.- Colostrum entier.

I.1.1.- Premier colostrum après vêlage.

I.1.1.1.- Résultats généraux moyens.

L'activité moyenne de la GGT du colostrum de toutes les vaches prélevées est de 22.000 ± 8.000 U/l. Dans cette population, ce paramètre a une distribution log-normale.

I.1.1.2.- Effets du type de production et de la race.

Pour toutes les races à viande, le colostrum est plus riche en GGT que celui des races laitières: respectivement 23.740 ± 9200 U/l et 20.100 ± 7.200 U/l ($P<0,05$). A l'intérieur de chaque type de production on ne relève aucune différence significative entre races tant la variation individuelle est grande.

I.1.1.3.- Effets de l'âge et du numéro de lactation.

Tous les animaux prélevés ont été répartis dans 6 classes d'âge et dans 5 classes de numéro de lactation. L'activité pour chacune de ces classes est supérieure à 20.000 U/l et on ne montre aucune différence significative entre les classes d'âges prises deux à deux ainsi qu'entre les classes de lactation prises deux à deux.

Aucune différence significative ne peut être attribuée

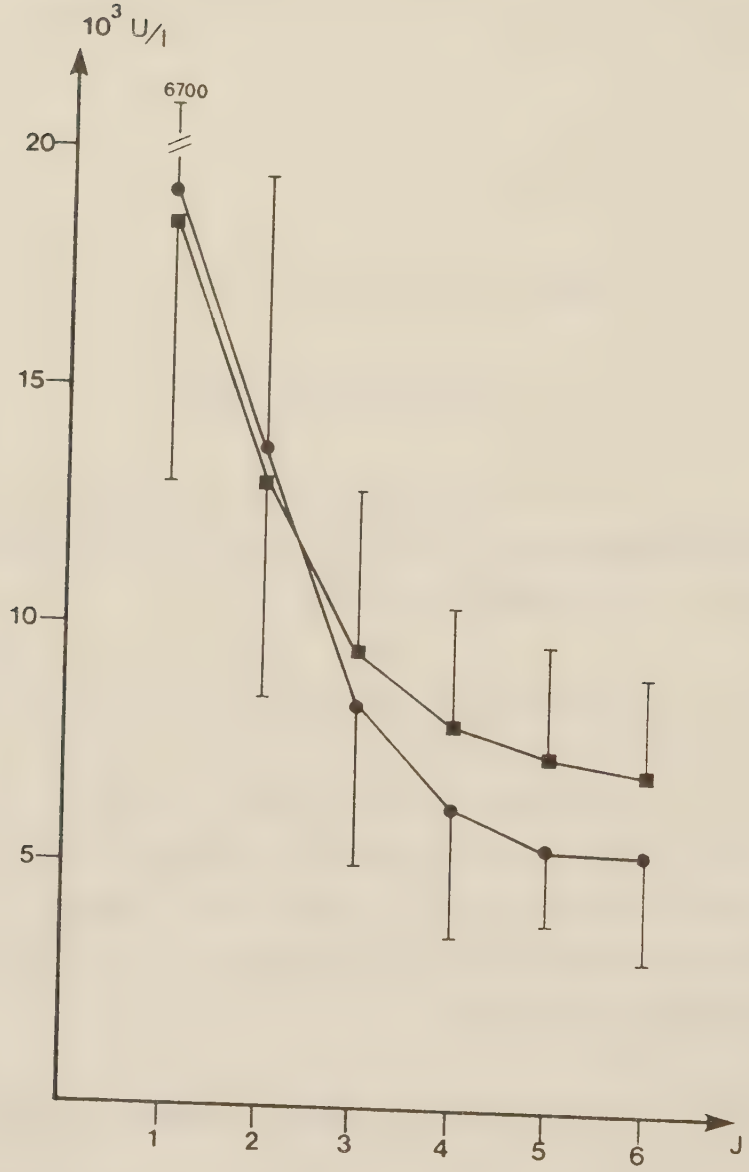

FIGURE N°4.

Evolution de la concentration de la GGT du colostrum de vache au cours des 6 premières traites. ● : début de traite. ■ : fin de traite.

à la lactation précédente évaluée par la quantité totale de lait produit, le taux de matière grasse et la concentration en matière protéique.

I.1.2.- Evolution pendant les trois premiers jours après vêlage.

Les résultats portent sur 25 F.F.P.N., 13 Brunes des Alpes, 12 Normandes, 9 Jersiaises et 4 Pie-rouges des plaines.

I.1.2.1.- Toutes races réunies.

Les résultats sont donnés dans la figure n°4.

I.1.2.1.1.- Effet du n° de traite après vêlage.

* Pour les prélèvements du début de traite, l'activité est maximale (19.500 ± 6.700 U/l) à la première traite avec de grandes variations individuelles (10.000 à 30.000 U/l). Dés la seconde traite, cette activité diminue rapidement vers les valeurs moyennes (5.000 ± 2.200 U/l) de la sixième traite. La différence entre l'activité de chacune des 5 premières traites et celle qui la précède est significative au plan statistique. Entre les cinquième et sixième traites l'écart n'est plus significatif.

* Pour les prélèvements de fin de traite, l'activité évolue de façon similaire. Mais si elle diminue aussi rapidement au cours des 3 premières traites, elle atteint aux quatrième, cinquième et sixième traites des valeurs proches de 7.000 U/l. De la même façon que précédemment la différence entre les cinquième et sixième traites n'est

plus significative.

I.1.2.1.2.- Effet du temps de traite.

En moyenne, l'activité du colostrum de début des 2 premières traites est supérieure à celle de fin de traite mais cette différence n'est pas significative. Par contre, pour les traites suivantes l'activité de la GGT est significativement plus élevée en fin de traite qu'au début ($P<0.05$).

I.1.2.2.- Etude par race.

Les résultats observés dans chaque race sont similaires aux résultats généraux précédents. L'activité moyenne de la GGT est plus élevée chez les F.F.P.N.; mais malgré une assez grande dispersion des résultats il n'existe que quelques différences significatives entre races. Par ailleurs, les écarts significatifs au plan statistique entre l'activité des début et fin de traite apparaissent respectivement aux troisième, quatrième et cinquième traites pour les Brunes, les F.F.P.N. et les Normandes.

I.1.2.3.- Effet du quartier de la mamelle.

Cinq vaches F.F.P.N. ont été prélevées aux quatre quartiers de la mamelle. L'activité de la GGT du colostrum ne diffère pas d'un quartier à l'autre quelque soit le temps et le n° de traite.

I.2.- Fraction délipidée du colostrum.

L'activité de la GGT des fractions délipidées du colostrum de début et de fin de traite a été mesurée sur les prélèvements des 5 premières traites pour 56 animaux et de sixième traite pour 25 animaux.

I.2.1.- Pour toutes les races réunies.

Les résultats sont donnés sur la figure n°5.

I.2.1.1.- Effet du numéro de traite.

* Pour les prélèvements de début de traite, l'activité moyenne est maximale (18.000 $\pm$ 8.600 U/l) à la première traite avec une grande variation individuelle (5.400 à 30.000 U/l). Dès la seconde traite cette activité décroît très rapidement, pour atteindre des valeurs voisines de 1.500 à 2.000 U/l à la quatrième traite. Les écarts d'activité entre les 5 premières traites sont significatifs, par contre entre les cinquième et sixième traites la différence n'est plus significative.

* Pour les prélèvements de fin de traite, l'activité de la GGT évolue de la même façon que précédemment. L'activité initiale est voisine de 18.000 U/l, elle chute rapidement au cours des 3 premières traites et se stabilise en moyenne à 1.700 U/l aux traites suivantes.

I.2.1.2.- Effet du temps de traite.

Au cours des 4 premières traites, l'activité moyenne du début est supérieure à celle de fin de traite mais cet écart n'est significatif qu'en seconde et troisième traites. Au-delà les ré-

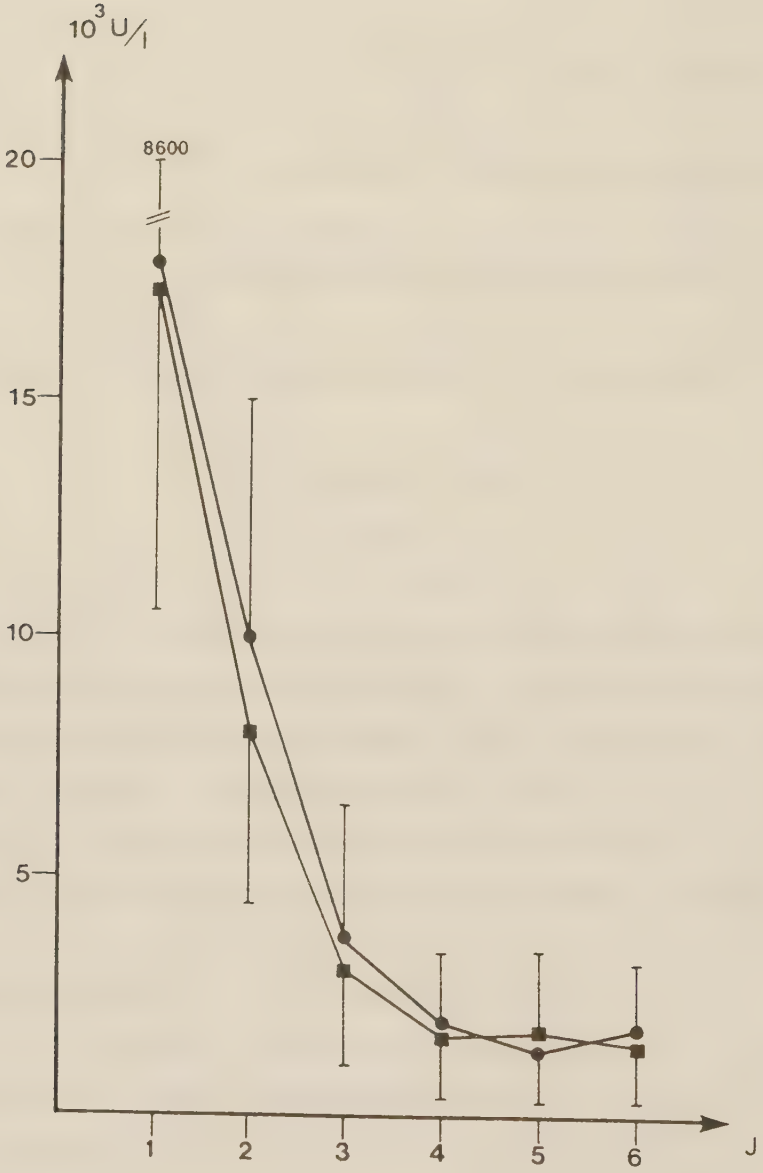

FIGURE N°5.

Evolution de la concentration de la GGT dans la fraction délipidée du colostrum des 6 premières traites. ●: début de traite. ■: fin de traite

sultats sont équivalents.

En comparant ces résultats à ceux obtenus pour le colostrum entier nous constatons qu'au cours des 6 premières traites la concentration de la GGT des fractions délipidées passe de 92% à 25% de celle du colostrum entier. Pour les prélèvements de première traite cette perte d'activité n'est pas significative; cela est sans doute dûe aux difficultés rencontrées pour délipider ces prélèvements de consistance très épaisse. Pour les prélèvements ultérieurs, la perte d'activité est, par contre, très significative et elle est plus importante en fin de traite qu'au début.

I.2.2.- Par race.

Nous avons retenu les résultats des vaches de race F.F.P.N., Normande et Brune des Alpes.

Aucune différence significative n'apparaît entre les races pour les débuts et fins de traites. Dans chacune des races, les résultats coïncident avec les résultats généraux précédents. Les écarts d'activité entre les début et fin de traites ne sont jamais significatifs.

I.3.- Fractions séparées par chromatographie.

Les résultats portent sur 17 prélèvements de colostrum délipidé: 10 proviennent du début et de la fin des 5 premières traites d'une Jersiaise; les 7 autres d'une F.F.P.N..

Le fractionnement par chromatographie d'un dépôt de colos-

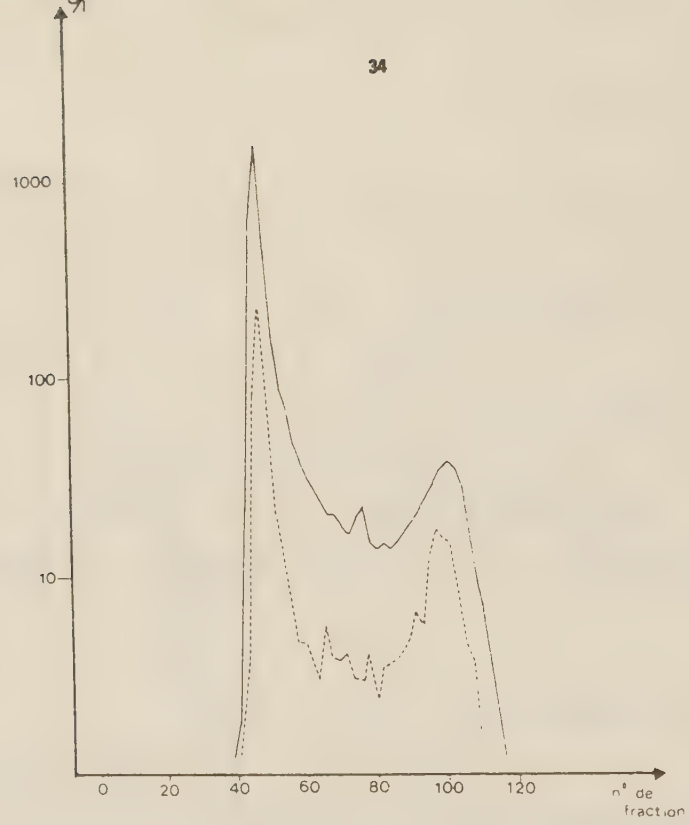

FIGURE N°6.

Fractionnement par chromatographie de la GGT et de la phosphatase alcaline d'un colostrum délipidé. ——: GGT. -----: Phosphatase alcaline.

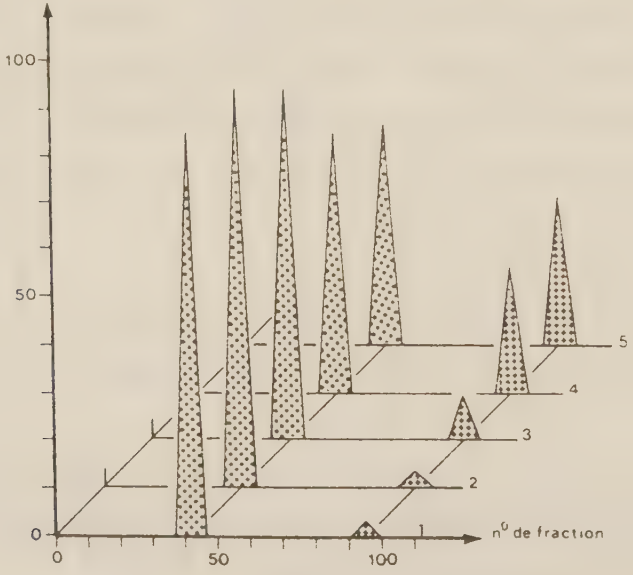

FIGURE N°7.

Chromatographie du colostrum délipidé sur Sépharose 6B. Evolution des 2 formes de la GGT au cours des 5 premières traites. Prélèvements de début de traite.
: fraction lourde. : fraction légère.

trum délipidé est rapporté sur la figure n°6. L'activité de la GGT apparaît en 2 pics distincts:

* un pic d'activité intense: "fraction lourde"

* un pic d'activité faible: "fraction légère"

Ces 2 pics sont trouvés dans les mêmes fractions d'élution pour tous les prélèvements, indépendamment du temps et du numéro de traite. (Remarque: L'activité enzymatique de la phosphatase alcaline dans ces fractions d'élution montre une répartition très similaire.)

Les modifications de la concentration de la GGT que l'on mesure dans ces 2 pics en fonction du temps et du numéro de traite sont rapportés dans la figure n°7.

Dans tous les cas étudiés, plus de 80% de l'activité initiale sont trouvés dans les fractions d'élution. Cette activité se répartit pour 50 à 90 % dans le premier pic et pour 1 à 30 % dans le second. L'activité de la GGT mesurée dans les fractions lourdes diminue au cours des 6 premières traites; parallèlement celle des fractions légères augmente. Le rapport fraction lourde sur fraction légère passe de 90 à 3,5 au cours des 6 premières traites pour les prélèvements du début et de 28 à 1,5 pour ceux de la fin. Le rapport fraction lourde sur fraction légère entre le début et la fin de chaque traite évolue de façon irrégulière.

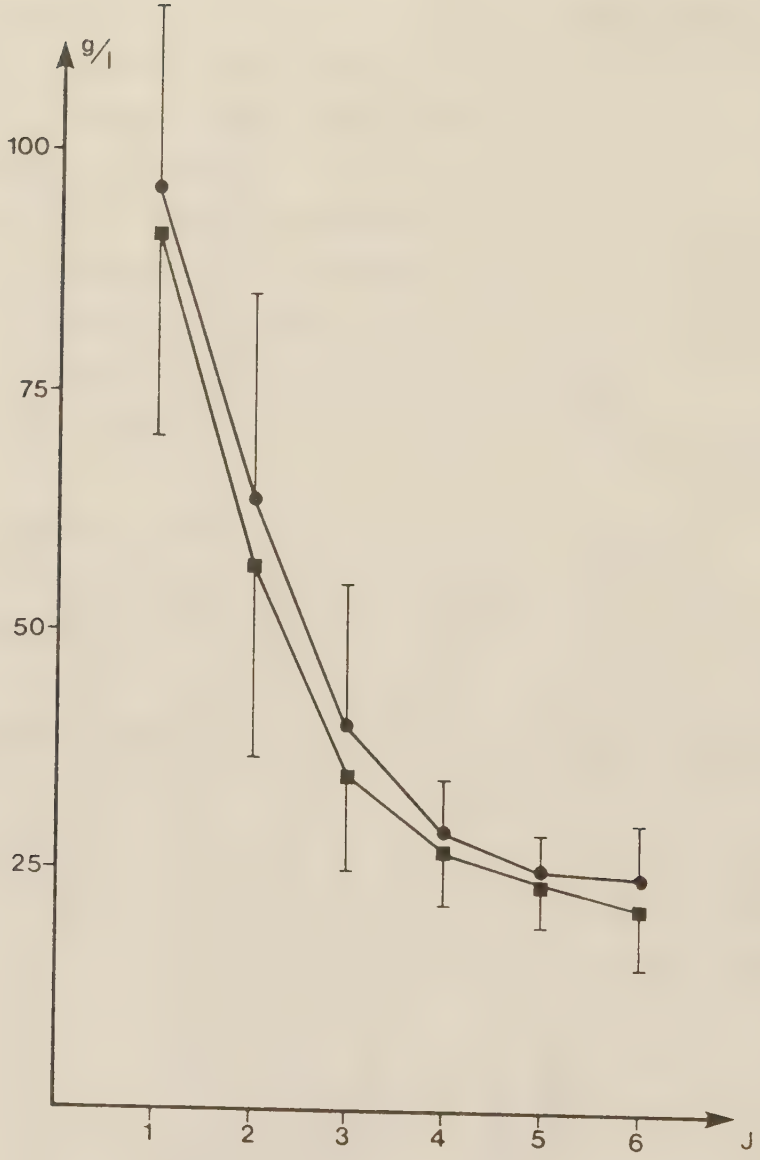

FIGURE N°8.

Evolution de la concentration en protéines totales des fractions délipidées du colostrum des 6 premières traites.
● : début de traite. ■ : fin de traite.

II.- RELATIONS ENTRE LA GGT ET LES PROTEINES DU COLOSTRUM.

II.1.- Les protéines totales dans la fraction délipidée du colostrum.

II.1.1.- Toutes races réunies.

Les résultats sont donnés dans la figure n°8.

II.1.1.1.- Effet du numéro de la traite.

* Prélèvements du début de traite: La concentration moyenne initiale est de 97 ± 21 g/l. Elle diminue de façon continue et significative au cours des 5 premières traites pour atteindre la valeur moyenne de 19 g/l. Entre les cinquième et sixième traites l'écart n'est plus significatif.

* Prélèvements de fin de traite: L'évolution de la concentration moyenne est similaire à la précédente avec une concentration initiale de 90 ± 20 g/l.

II.1.1.2.- Effet du temps de traite.

Au cours des 3 premières traites la concentration en protéine est supérieure en début qu'en fin de traite. Pour les traites suivantes la différence n'est plus significative.

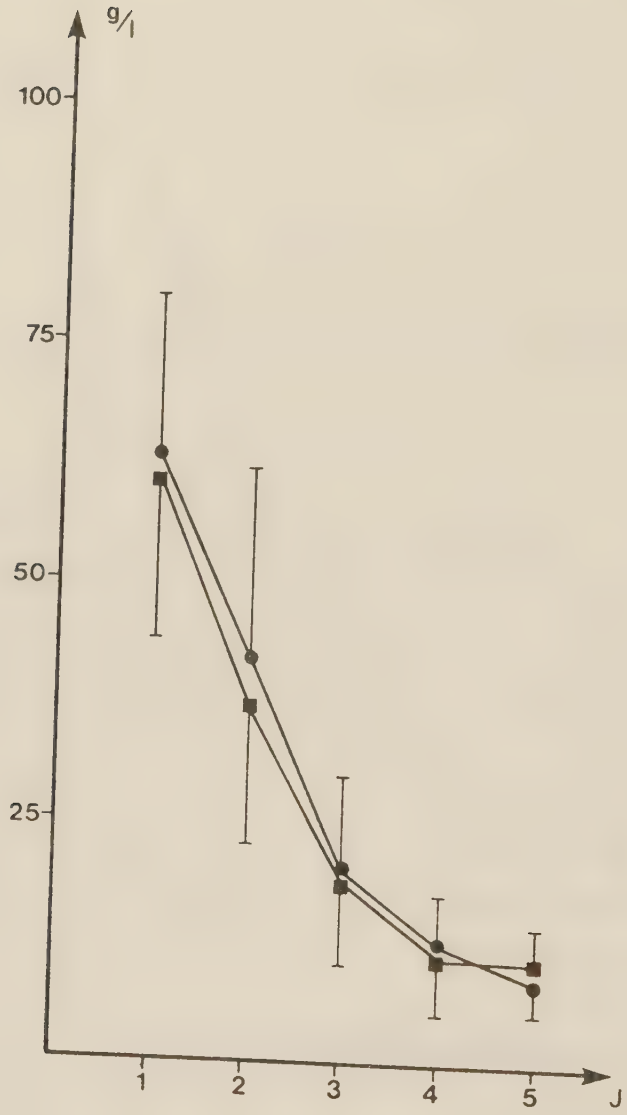

FIGURE N°9.

Evolution de la concentration des immunoglobulines des fractions délipidées du colostrum des 5 premières traites.
● : début de traite. ■ : fin de traite.

II.1.2.- Par race.

Pour chaque race les effets du numéro et du temps de traite sont très voisins des résultats généraux précédents. La différence porte de façon significative sur la concentration des prélèvements du premier jour. Ceux de Jersiaises ont la concentration la plus élevée, puis viennent dans l'ordre ceux de F.F.P.N., de Normandes et de Brunes. A titre d'exemple pour la première traite les concentrations du début sont respectivement: 119 ± 19g/l, 102 ± 18 g/l, 101 ± 10 g/l et 80 ± 16 g/l.

Au-delà du premier jour, les différences entre races ne sont plus significatives mais la concentration des prélèvements de Jersiaises reste supérieure.

II.2.- Les γ-globulines dans la fraction délipidée du colostrum.

Les résultats portent sur les 5 premières traites de 41 vaches (12 F.F.P.N., 11 Normandes, 13 Brunes et 5 Jersiaises.)

II.2.1.- Toutes races réunies.

Les résultats sont donnés sur la figure n°9.

II.2.1.1- Effet du numéro de la traite.

* Prélèvements de début de traite: La concentration moyenne initiale est de 63 ± 20 g/l. Elle diminue de façon continue et significative au cours des 5 premières traites pour atteindre la valeur moyenne de 8 ± 3 g/l.

* Prélèvements de fin de traite: La concentration initiale est de 59 ± 20 g/l. Elle diminue de façon continue et significative au cours des 4 premières traites pour atteindre des valeurs proches de 11 g/l.

II.2.1.2.- Effet du temps de traite.

Au cours des 4 premières traites, la concentration moyenne du début est supérieure à celle de la fin, mais cet écart n'est significatif qu'en seconde traite. A la cinquième le rapport s'inverse de façon significative.

II.2.2.- Par race.

Pour chaque race les effets du numéro et du temps de la traite sont très voisins des résultats généraux précédents. La différence porte, de façon significative, sur la concentration des prélèvements du premier jour. Ceux de Jersiaises ont la concentration la plus élevée, puis viennent dans l'ordre ceux de Normandes, de F.F.P.N. et de Brunes. A titre d'exemple, les concentrations du début sont respectivement: 88 ± 17 g/l, 69 ± 14 g/l,63 ± 15 g/l et 51 ± 17 g/l.

Au-delà du premier jour, les concentrations des prélèvements de F.F.P.N., de Normandes et de Brunes sont équivalentes mais restent inférieures à celles des Jersiaises.

II.3.- Corrélations entre la GGT et les protéines.

Les concentrations des protéines totales et des γ-globulines et la l'activité de la GGT des fractions délipidées du colostrum évoluent de la même façon au cours des 6 premières traites. Les coefficients de corrélation entre la GGT et les protéines, la GGT et les γ-globulines et entre les protéines totales et les γ-globulines sont rassemblés dans le tableau n°7. Ceux entre les protéines et les γ-globulines sont très élevés, par contre ceux qui concernent la GGT sont pour la plupart faibles bien que significatifs au plan statistique.

		1	2	3	4	5
	n° de traite					
début	GGT/Prot.Totales	0,22	0,80	0,72	0,54	0,23
début	GGT/ϑ-globulines	0,49	0,62	0,68	0,39	0,32
début	Prot.T./ϑ-glo.	0,82	0,91	0,94	0,81	0,62
fin	GGT/Prot.Totales	0,31	0,85	0,60	0,53	0,54
fin	GGT/ϑ-globulines	0,15	0,78	0,42	0,35	0,56
fin	Prot.T./ϑ-glo.	0,86	0,95	0,92	0,92	0,91

TABLEAU N°7

Corrélation entre GGT et protéines de la fraction délipidée.

****
*   *
* DISCUSSION *
*   *
****

1.- Activité de la GGT dans le premier colostrum après vêlage.

En accord avec la littérature (19,22), nous avons vérifié que la GGT du colostrum présente une concentration maximale dans le premier colostrum après vêlage. Notons qu'il est impossible de comparer en valeur absolue ces résultats faute de techniques comparables.

D'emblée, de très importantes variations inter-individuelles sont relevées ainsi que cela avait déjà été observé (27). Ces variations sont telles qu'il n'est en pratique possible de démontrer de différences significatives qu'entre les groupes de vaches à viande et de laitières avec une concentration supérieure pour les premières.

Cependant, les races à viande produisant beaucoup moins de lait que les races laitières, il est probable que la quantité totale de GGT produite par jour soit inférieure ou au maximum égale à celle produite par les races laitières.

Par contre aucun effet significatif ne peut être rattaché ni à l'âge, ni au numéro de lactation, ni aux performances zootechniques estimées par le C.L.B..

2.- Evolution de la GGT dans le colostrum et le lait

La cinétique de la GGT dans le colostrum et le lait montre une très rapide diminution comme déjà vu chez la femme (21,28), la vache (23,26) et la brebis (35). Progressivement, la GGT se stabilise vers le troisième jour pour atteindre des valeurs plus stables qui sont celles du lait. Ces observations sont à rapprocher des modifications majeures qui apparaissent dans la composition chimique des sécrétions mammaires au cours des 5 premiers jours après vêlage et qui président à la transition entre la sécrétion du colostrum et celle du lait (36).

Dans le même temps, la différence d'activité entre le début et la fin de traite s'accentue progressivement à partir de la troisième traite. Cette plus forte activité observée en fin de traite peut être rapprochée de la plus forte concentration de lipides dans le lait de fin de traite. Cependant cette association de la GGT aux lipides n'est pas confirmée par les résultats suivants:

La GGT n'est pas plus concentrée dans le lait de races ayant un fort taux de matière grasse telles que les Jersiaises et Normandes et dans ces mêmes races, la différence d'activité entre début et fin de traite n'est pas plus accentuée que dans d'autres races.

Cependant, deux facteurs biologique et technique ne favorisent pas l'expression de telles différences. Ce sont:

- d'une part, la variation inter-individuelle qui, comme nous l'avons déjà signalé, est très importante,
- d'autre part, la définition de la fin de traite qui reste équivoque dans notre protocole expérimental. Alors que le début de traite est bien défini (on recueille le colostrum après lavage du pis et éjection des premiers jets), la notion de fin de traite reste toute théorique et fluctue avec les habitudes du trayeur. Par exemple, suivant qu'il pratique ou non le massage du pis en fin de traite ou que sa salle de traite est équipée on non d'un système de décrochage automatique des manchons-trayeurs, les résultats diffèrent.

3.- Répartition de la GGT dans la fraction délipidée des prélèvements.

La comparaison des décroissances de la GGT dans le colostrum total et le colostrum délipidé montre une diminution plus rapide dans le fluide délipidé. Cette perte d'activité n'est pas imputable en totalité aux

lipides puisque, selon la littérature (30), une part non négligeable est due au culot de centrifugation. Les résultats obtenus à partir du troisième jour de traite après vêlage confirment ceux de Majumder (30) pour qui 28% de l'activité totale de la GGT du lait se trouvent dans le lait écrémé. Enfin, l'influence déstabilisante de la congélation sur la GGT des membranes du globule gras notée par Baumrucker (16), n'a pas été constatée.

4.- Protéines et GGT dans les prélèvements délipidés.

L'étude des protéines totales et des γ-globulines montre qu'au cours des 6 premières traites l'évolution de leur concentration constitue bien une des modifications majeures de la composition chimique contribuant à la transition entre les sécrétions de colostrum et de lait.

Les coefficients de corrélation obtenus entre les protéines totales et les γ-globulines sont élevés. Ils nous permettent de vérifier que ce sont principalement les γ-globulines qui influencent l'évolution de la concentration en protéines totales du colostrum et qu'en retour, on peut apprécier le potentiel immunitaire global d'un colostrum à son taux de protéines totales. Les variations entre races en donnent un bon exemple (cf. Jersiaises). La diminution de la filtration des γ-globulines par la mamelle est compensée par la sécrétion croissante des caséines; cela rend compte du taux constant des protéines totales à partir de la troisième traite.

Ces modifications sont de la plus grande importance pour le jeune veau qui nait en état d'hypogammaglobulinémie voire d'agammaglobulinémie puisque dans l'espèce bovine, la transmission de l'immunité s'effectue exclusivement par l'ingestion et l'absorption des immunoglobulines du colostrum au cours des 36 premières heures de vie. Or, 9 heures après le vêlage la concentration du colostrum en immunoglobulines commence à dé-

cliner (37) et nous constatons qu'à la trente sixième heure la concentration des γ-globulines a chuté de plus de 67% de sa valeur initiale.

Dans le colostrum, GGT et protéines totales semblent liées même si la corrélation entre ces deux facteurs est assez moyenne. Cette liaison peut être rapprochée d'un des rôles postulés pour la GGT (en particulier 38): le transport d'acides aminés à travers les membranes, celui-ci étant indispensable à une active synthèse protidique. Cette relation entre GGT et protéines est renforcée par le fait qu'au cours des 3 premières traites les concentration de ces 2 constituants sont plus élevées en début qu'en fin de traite. Selon Keenan et Patton (17,18) dans ces premiers prélèvements où la concentration protéique est forte, la totalité des fragments membranaires n'est pas retrouvée exclusivement dans la phase lipidique mais aussi dans les fractions écrémées du colostrum et du lait, renforçant ainsi l'hypothèse précédemment émise.

En accord avec la littérature (3,15,24), nous avons trouvé 2 formes de la GGT dans la fraction délipidée du colostrum et du lait. Au cours des 6 premières traites leurs cinétiques sont contraires et peuvent être respectivement rapprochées de celles des γ-globulines et des caséines; c'est à dire des activités de filtration et de sécrétion de la cellule acineuse. Il nous semble impossible d'en dire plus pour le moment.

CONCLUSION

Dès le vêlage, la concentration d'activité catalytique de la GGT est très forte dans le colostrum de la vache et elle présente de notables variations inter-individuelles qui masquent les effets éventuels de la race, de l'âge, du numéro de lactation ou des performances zootechniques de l'animal. Cette concentration décroît très rapidement en même temps que la sécrétion évolue vers la production de lait.

Répartie entre les phases lipidique et non lipidique du colostrum, la GGT présente deux formes moléculaires différentes dans le colostrum délipidé où sa concentration d'activité catalytique est assez faiblement corrélée à la concentration des γ-globulines.

Tout comme les autres protéines, la GGT colostrale est absorbée par la muqueuse intestinale du nouveau-né et passe dans le sang où elle est responsable des fortes élévations relevées et où elle peut servir de témoin de l'ingestion du colostrum et donc de l'acquisition passive de l'immunité par le nouveau-né.

Il resterait cependant utile de compléter cette étude en s'attachant à évaluer de manière quantitative les tranferts de GGT de la mère au nouveau-né; il serait également intéressant d'étudier les formes moléculaires de la GGT chez le nouveau-né, et leurs évolutions, pour les comparer à celles du colostrum.

VU : Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

Professeur RICO

VU : Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire

Professeur R. LAUTIE

VU : Le Président de la Thèse

Professeur DOUSTE-BLAZY

VU et PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 24.02.1984
Le Président de l'Univeristé Paul Sabatier

UNIVERSITE PAUL-SABATIER · TOULOUSE

Professeur D. [illegible]

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

01. BAUMRUCKER C.R. & POCIUS P.A.
γ-glutamyltranspeptidase in lactating mammary secretory tissue of cow and rat.
J. Dairy Sci., 1978, 61: 309-314.

02. BAUMRUCKER C.R. & POCIUS P.A.
Glutathione utilization by bovine mammary secretory tissue in vitro.
Biochem. J., 1981, 198: 243-246.

03. SOBIECH K.A., ZIOMEK E. & SZEWCZUK A.
Purification and some properties of γ-glutamyltranferase from cow's milk.
Arch. Immunol. Ther. Exp., 1974, 22: 645-656.

04. FRAHM K., GRAF F., KRAUSSLICH H. & OSTERKORN K.
Enzymaktivitäten in Rinderorganen. 2. Mitteilung: Organalysen bei Holstein-Friesian-Kühen.
Zbl. Vet. Med. A., 1978, 25: 297-306.

05. POCIUS P.A., BAUMRUCKER C.R., McNAMARA J.P. & BAUMAN D.E.
γ-glutamyltranpeptidase in rat mammary tissue.
Biochem. J., 1980, 188: 565-568.

06. PUENTE J., CASTELLON E. & SAPAG-HAGAR M.
Glutathione and γ-glutamyl cycle enzymes in rat mammary gland.
Experientia, 1982, 38: 531-532.

07. PUENTE J., MARTINEZ A.M., BECKHAUS G. & SAPAR-HAGAR M.
Properties of γ-glutamyltranspeptidase, and glutathione levels in rat mammary gland.
Experientia , 1981, 37: 459-460.

08. MAJUMDER G.C. & GANGULI N.C.
γ-glutamyltranpeptidase in milk. Part III: Relative distribution in milk and other tissues.
Milchwissenschaft, 1972, 27: 484-487.

09. ALBERT Z., ORLOWSKA J., ORLOWSKI M. & SZEWCZUK A.
Histochemical and biochemical investigations of γ-gamma-glutamyltranspeptidase in the tissues of man and laboratory rodents.
Acta Histochem., 1964, 18: 78-89.

10. ALBERT Z.
Gamma-glutamyltranpeptidase in cancers of different human organs.
Nature, 1965, 205: 407.

11. ALBERT Z.
Further studies on the activity of gamma-glutamyltranspeptidase in man and certain other mammals.
in Enzyme Histochemistry. Simposio Antonio Baselli Milano. 27-28 maggio 1967.

12. YASUMOTO K., IWAMI K., FUSHIKI T. & MITSUDA H.
Bovine colostral γ-glutamyl transferase; its localisation in skim milk membrane and irrelevance to secretory immunoglobulin A.
Febs Letters, 1976, 67: 328-330.

13. BAILIE M.J. & MORTON R.K.
Comparative properties of microsomes from cow's milk and from mammary gland. I. Enzymatic activities.
Biochem. J., 1958, 69: 35-44.

14. KITCHEN B.J.
A comparison of the properties of membranes isolated from bovine skim milk and cream.
Bioch. Bioph. Acta, 1974, 356: 257-269.

15. BAUMRUCKER C.R.
Purification and identification of γ-glutamyltranpeptidase of milk membranes.
J.Dairy Sci., 1980, 63: 49-54.

16. BAUMRUCKER C.R.
γ-glutamyl transpeptidase of bovine milk membranes: Distribution and characterization.
J. Dairy Sci., 1979, 62: 253-258.

17. KEENAN T.W., MORRE D.J., & HUANG C.M.
Membranes of the mammary gland. in: LARSON B.L. & SMITH V.R. : Lactation vol.II Academic Press; New-York, 1974.

18. PATTON S. & KENAN T.W.
The milk fat globule membrane.
Bioch. Bioph. Acta, 1975, 415: 273-309.

19. BRAUN J.P., BENARD P., BURGAT V. & RICO A.G.
Gamma glutamyl tranferase in domestic animals.
Vet. Res. Com., 1983, 6: 77-90.

20. UNGLAUB W., AFSCHAR A. & MARX D.
Die Aktivität der γ-GT (gamma-glutamyltranpeptidase) im Serum des Rindes.
Dtsch. Tierärztl. Wschr., 1973, 80: 131-134.

21. SOBIECH K.A. & WIECZOREK E.
γ-glutamyl tranpeptidase activity in human colostrum.
Enzyme, 1981, 26: 153-155.

22. THOMSON J.C. & PAULI J.V.
Colostral transfer of gamma glutamyl tranferase in calves.
N. Z. Vet. J., 1981, 29: 223-226.

23. BRAUN J.P., TAINTURIER D., LAUGIER C., BENARD P., THOUVENOT J.P. & RICO A.G.
Early variation of blood plasma gamma-glutamyltransferase in newborn calves - A test of colostrum intake.
J. Dairy Sci., 1982, 65: 2178-2181.

24. MILNEROWICK H., PRUSAK E., SIEWINSKI M., ZIOMEK E., KUSTRZEBA-WOJCIKA I. & SZEWCZUK A.
Molecular forms of bovine γ-glutamyltransferase and their enzyme immunoassay.
Arch. Immunol. Ther. Exp., 1981, 29: 543-549.

25. GRUNDIG C.A. & RUMLER W.
Ueber die Aktivität einiger Enzyme des Eiweissstoffwechsels in frauenmilch und Kuhmilch.
Kiln. Wschr., 1965, 43: 1010-1012.

26. MAJUMDER G.C. & GANGULI N.C.
Enzymatic formation of hydroxamate from glutathione and hydroxylamine by milk.
Indian J. Dairy Sci., 1968, 22: 193-196.

27. MAJUMDER G.C. & GANGULI N.C.
ϑ-glutamyltranspeptidase in milk: Part I. Certain parameters influencing its activity.
Milchwissenschaft, 1972, 27: 296-299.

28. LANDON M.
ϑ-glutamyltranferase in breast milk.
Ann. Clin. Biochem., 1975, 12: 48-50.

29. BINKLEY F., WIESEMANN M.L., GROTH D.P & POWELL R.W.
ϑ-glutamyltranferase: A secretory enzyme.
Febs Letters, 1975, 51: 168-170.

30. MAJUMDER G.C. & GANGULI N.C.
ϑ-glutamyltranferase in milk: Part II. Distribution in milk fractions.
Milchwissenschaft, 1972, 27: 426-429.

31. BINKLEY F. & WIESEMANN W.L.
Glutathione and gammaglutamyltransferase in secretory processes.
Life Science, 1975, 1: 168-170.

32. LINDH E. & BJORK I.
The finding that secretory component is not associated with ϑ-glutamyltranpeptidase activity.
Acta. Path. Microbio. Scand. Sect. C, 1977, 85: 222-224.

33. SZASZ G.
A kinetic photometric method for ϑ-glutamyl transpeptidase.
Clin. Chem., 1976, 15: 124-136.

34. PERSIJN J.P. & VAN DER SLIK W.
A new method for the determination of ϑ-glutamyl tranferase in serum.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 1976, 14: 421-427.

35. PAULI J.V.
Colostral transfer of gamma glutamyl tranferase in lambs.
N.Z. Vet. J., 1983, 31: 150-151.

36. JENNES R.
The composition of milk. in: LARSON B.L. & SMITH V.R.: Lactation vol.III Academic Press; New-York, 1974.

37. STAUB O.C. & MATTHAEUS W.
The immunoglobulin composition of colostrum and the persistence of acquired immunoglobulins and specific antibodies in calf.
Ann. Rech. Vet., 1978, 9: 269-275.

38. MEISTER A.
On the enzymology of amino acid transport.
Science, 1973, 180: 33-39.

REMERCIEMENTS

Je remercie, pour l'aide qu'ils m'ont apportée, tous les membres du personnel de la chaire de physique et de chimie biologiques et médicales de l'E.N.V.T.° et en particulier Monsieur BRAUN.

Je remercie également:

Messieurs SOULA et CANAL du C.R.A.C.°°,

Monsieur FERNET de l'HOTEL DIEU,

Messieurs BERTHELOT, BEZILLE, DARRE et FERNET de l'E.N.V.T.°

Messieurs ANDRE et PELLERIN de l'E.N.V.N.°°°

Monsieur VUILLAUME de la D.S.V.°°°°des LANDES,

Messieurs BOURGUIGNAT, DEMARCQ, DUQUESNEL, GAYMAY, MEUNIER et Madame DEMARCQ: mes amis et confrères,

Messieurs BARALE, BASSANETI, DENCAUSSE, DOUCET, ESCADEILLAS, FONTEZ, FULCHERI, GAROS, GIEULE, GISPERT, HARMSEN, LAURENT, MILHORAT, NAUX, POUIL, NEEL, PESSANT, PRENAT, ROUX, SAVES, SOUDAIS, SOUVERVILLE: éleveurs du Gers et de Haute-Garonne.

° : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
°° : Centre Régionale Anti-Cancéreux de Toulouse.
°°° : Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes.
°°°° : Direction des Services Vétérinaires.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....p: 1

BIBLIOGRAPHIE

I.- ORIGINE
I.1.- Faits expérimentaux en faveur de l'origine mammaire.p: 5
I.2.- Faits excluant l'origine plasmatique.....p: 7
II.- ACTIVITE
II.1.- Concentration d'activité.....p: 9
II.2.- Facteurs de variation analytiques et biologiques....p: 10
III.- REPARTITION
III.1.- Fraction du lait entier.....p: 13
III.2.- Fraction du lait écrémé.....p: 15
III.3.- fraction de la crème.....p: 15
IV.- ASPECTS BIOCHIMIQUES
IV.1.- Structure.....p: 15
IV.2.- Propriétés.....p: 16
IV.3.- Relation de la GGT avec les immunoglobulines-A.....p: 17

MATERIEL ET METHODE

I.- LES ANIMAUX.....p: 21
II.- PRELEVEMENTS ET LEURS TRAITEMENTS.....p: 21
III.- ANALYSES.....p: 22
IV.- TRAITEMENT STATISTIQUE DES RESULTATS.....p: 24

RESULTATS

I.- CONCENTRATION D'ACTIVITE CATALYTIQUE DE LA GGT DU COLOSTRUM
I.1.- Colostrum entier.....p: 27
I.2.- Fraction délipidée du colostrum.....p: 31
I.3.- Fractions séparées par chromatographie.....p: 33

II.- RELATION ENTRE LA GGT ET LES PROTEINES DU COLOSTRUM
II.1.- Les protéines totales de la fraction délipidée .....p: 37
II.2.- Les δ-globulines de la fraction délipidée.....p: 39
II.3.- Corrélation entre GGT et protéines.....p: 41

DISCUSSION

I.- Activité de la GGT du premier colostrum après vêlage.....p: 45
II.- Evolution de la GGT du colostrum et du lait.....p: 45
III.- Répartition de la GGT dans la fraction délipidée .....p: 46
IV.- Protéines et GGT dans les prélèvements délipidés.....p: 47

CONCLUSION.....p: 49
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....p: 53
REMERCIEMENTS.....p: 59
TABLE DES MATIERES.....p: 60